

TRABAJO FINAL DE GRADO

**SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR
DEL ESTRATO CÓRNEO.
APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS.**

Leire Cerro Moreno

Grado en Biotecnología.

Facultad de Ciencias Experimentales.

Universidad Miguel Hernández

2026



BIOTECNOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Tutor: Prof. José Villalaín

RESUMEN

El estrato córneo es la capa más externa de la epidermis y el principal responsable de la función barrera de la piel. Su matriz lipídica, formada principalmente por ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres, presenta una organización altamente ordenada que limita la pérdida de agua y la entrada de sustancias externas. En este trabajo se analiza, mediante dinámica molecular, un sistema lipídico representativo del estrato córneo compuesto por 400 lípidos y simulado durante 800 ns. Los resultados muestran una autoorganización en una bicapa estable, con baja difusión normal, elevado empaquetamiento y una clara separación entre regiones polares e hidrofóbicas. Estos resultados justifican la capacidad protectora de esta capa epidérmica, relacionándola directamente con su estructura, y muestran el potencial de la dinámica molecular para el diseño de estrategias biotecnológicas y formulaciones de reparación cutánea.

Palabras clave: estrato córneo; dinámica molecular; ceramidas; autoorganización; matriz lipídica; difusión.

ABSTRACT

The stratum corneum is the outermost layer of the epidermis and the main contributor to the skin barrier function. Its lipid matrix, mainly composed of ceramides, cholesterol and free fatty acids, shows a highly ordered organization that limits water loss and the entry of external compounds. In this study, a representative lipid system of the stratum corneum composed of 400 lipids was studied by molecular dynamics over 800 ns. The results show self-organization into a stable bilayer, with low normal diffusion, high lipid packing and a clear separation between polar and hydrophobic regions. Overall, these results connect the molecular organization of the lipid matrix with the skin barrier function and highlight the relevance of molecular dynamics for the design of biotechnological strategies and skin repair formulations.

Keywords: stratum corneum; molecular dynamics; ceramides; self-organization; lipid matrix; diffusion.

ABREVIATURAS

SC	Estrato Córneo	PAL	Ácido Palmítico
SG	Estrato Granuloso	STE	Ácido Esteárico
SS	Estrato Espinoso	ARA	Ácido Araquidónico
SB	Estrato Basal	BEH	Ácido Behénico
MB	Membrana Basal	LIGN	Ácido Lignocérico
SPP	Fase de Periodicidad Corta	CER3	Ceramida 3
LPP	Fase de Periodicidad Larga	CER6	Ceramida 6
EO	Acilceramida	CER200	Ceramida 200
ULCFA	Ácido Graso de Cadena Ultra Larga	CER220	Ceramida 220
CHOL	Colesterol	CER240	Ceramida 240
CER	Ceramida	CER241	Ceramida 241
FFA	Ácido Graso Libre	PME	Particle Mesh Ewald
EOS	Acilceramida con Esfingosina	VMD	Visual Molecular Dynamics
LLPS	Separación de Fases Líquido-Líquido	COM	Center Of Masses
DM	Dinámica Molecular	S_{CD}	Parámetro de Orden del Deuterio
APL	Area Por Lípido		

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1. La función del estrato córneo en el contexto de la estructura de la piel...	4
1.2. Estructura del estrato córneo	5
1.3. Composición única de la matriz lipídica intercelular del SC	8
1.4. Alteraciones del SC.....	9
1.5. Nuevos abordajes sobre la estructura del estrato córneo	9
1.6. Justificación del estudio <i>in silico</i>	10
1.7. Objetivos del TFG	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.1 Simulación de dinámica molecular.....	12
2.2 Sistema simulado del SC	13
2.3. Análisis de la trayectoria	14
2.3.1 Parámetros de orden y empaquetamiento	16
2.3.2 Interacciones moleculares: puentes de hidrógeno y contactos	16
2.3.3 Dinámica de difusión	16
2.3.4 Localización y perfiles de densidad	16
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
3.1 Centros de masas (COM)	17
3.2 Difusión	18
3.3 Parámetro de orden del deuterio (S_{CD})	19
3.4 Puentes de hidrógeno	23
3.5 Conformación final de la bicapa.....	24
4. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL ESTUDIO DEL ESTRATO CÓRNEO MEDIANTE DINÁMICA MOLECULAR	33
4.1. Diseño racional de sistemas de liberación transdérmica	33
4.2. Desarrollo de terapias de reparación de la barrera cutánea	33
4.3. Predicción de moléculas capaces de atravesar el estrato córneo	34
4.4. Innovación en formulaciones dermocosméticas y biomateriales	35
5. CONCLUSIÓN.....	35
6. REFERENCIAS	39

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La función del estrato córneo en el contexto de la estructura de la piel

La piel es el órgano del cuerpo de mayor extensión, suponiendo una barrera multifuncional de los organismos, radicando su efectividad en su estructura [1]. Las células características de la piel son los queratinocitos, que se diferencian para transformarse en corneocitos. Constituida por hipodermis, dermis y epidermis, esta última es la principal responsable de la función protectora, al tratarse de una barrera física, microbiológica e inmunológica. Se caracteriza por contar con varias capas donde se distingue la diferenciación de los queratinocitos en corneocitos:

- Estrato córneo (SC): capa más externa y superficial de la epidermis, compuesta por capas de células muertas, los corneocitos anucleados, que forman la barrera física principal. Los lípidos característicos son ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres.
- Estrato granuloso (SG): Se sitúa inmediatamente debajo del estrato córneo, en esta capa los queratinocitos contienen gránulos de queratohialina y cuerpos lamelares antes de su diferenciación terminal. Los lípidos que conforman esta capa son las glucosilceramidas, esfingomielinas, sulfato de colesterol y acilglicerol.
- Estrato espinoso (SS): Es la capa intermedia donde los queratinocitos comienzan su proceso de diferenciación y movimiento hacia la superficie. Esta capa se caracteriza por contar con fosfolípidos y producción de ceramidas.
- Estrato basal (SB): Es la capa más profunda de la epidermis, donde se encuentran las células en constante división (proliferación) que darán lugar a las capas superiores. Su composición destaca por la presencia de fosfolípidos y triacilglicerol.
- Membrana basal (MB): estructura que sirve de límite y unión entre la epidermis y la dermis.

Este trabajo se ha centrado en el estudio mediante dinámica molecular del estrato córneo, principal responsable de la función protectora de la piel. Esta importancia en la protección está estrechamente relacionada con su estructura, muy característica al no contener fosfolípidos, principales lípidos de membrana del organismo.

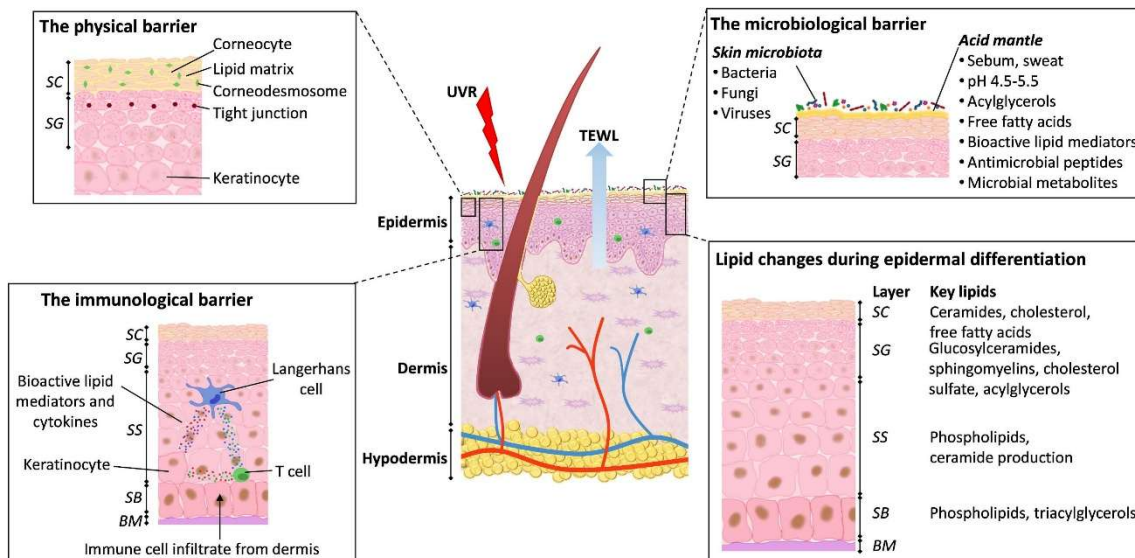


Figura 1. Esquema de la estructura de la piel y sus principales funciones de barrera (física, microbiológica e inmunológica), la organización de las capas cutáneas (epidermis, dermis e hipodermis), la pérdida de agua transepidérmica y los cambios en la composición lipídica durante la diferenciación epidérmica.

1.2. Estructura del estrato córneo

El estrato córneo es el único componente de la capa más externa de la epidermis, compuesta por células muertas, con un grosor de entre 10 y 20 μm . La estructura de esta capa se describe mediante el modelo de "ladrillos y mortero", donde los corneocitos (75-80% en masa) representan los ladrillos, y la matriz lipídica intercelular (5-15%) [2] actúa como el mortero que los une [3]. Los corneocitos son las células muertas llenas de agua y queratina microfibrilar, rodeadas de un envoltorio cornificado, que consiste en una capa densa de filagrina, loricrina e involucrina entrecruzadas. A esta envoltura se asocia una monocapa de lípidos apolares, denominada envoltura lipídica, que contribuye a la organización de las capas lipídicas intercelulares [4].

La formación adecuada de esta estructura es esencial para el ensamblaje de la matriz lipídica, que constituye la única vía continua a través del estrato córneo, lo que la convierte en el determinante clave de la limitada permeabilidad y la difusión de sustancias a través de la piel [5]. Una alteración en la envoltura o en la matriz lipídica compromete la permeabilidad cutánea, dando lugar a una barrera defectuosa. La matriz lipídica intercelular constituye, por tanto, el principal y más relevante elemento responsable de la difusión y penetración de sustancias a través del estrato córneo [4].

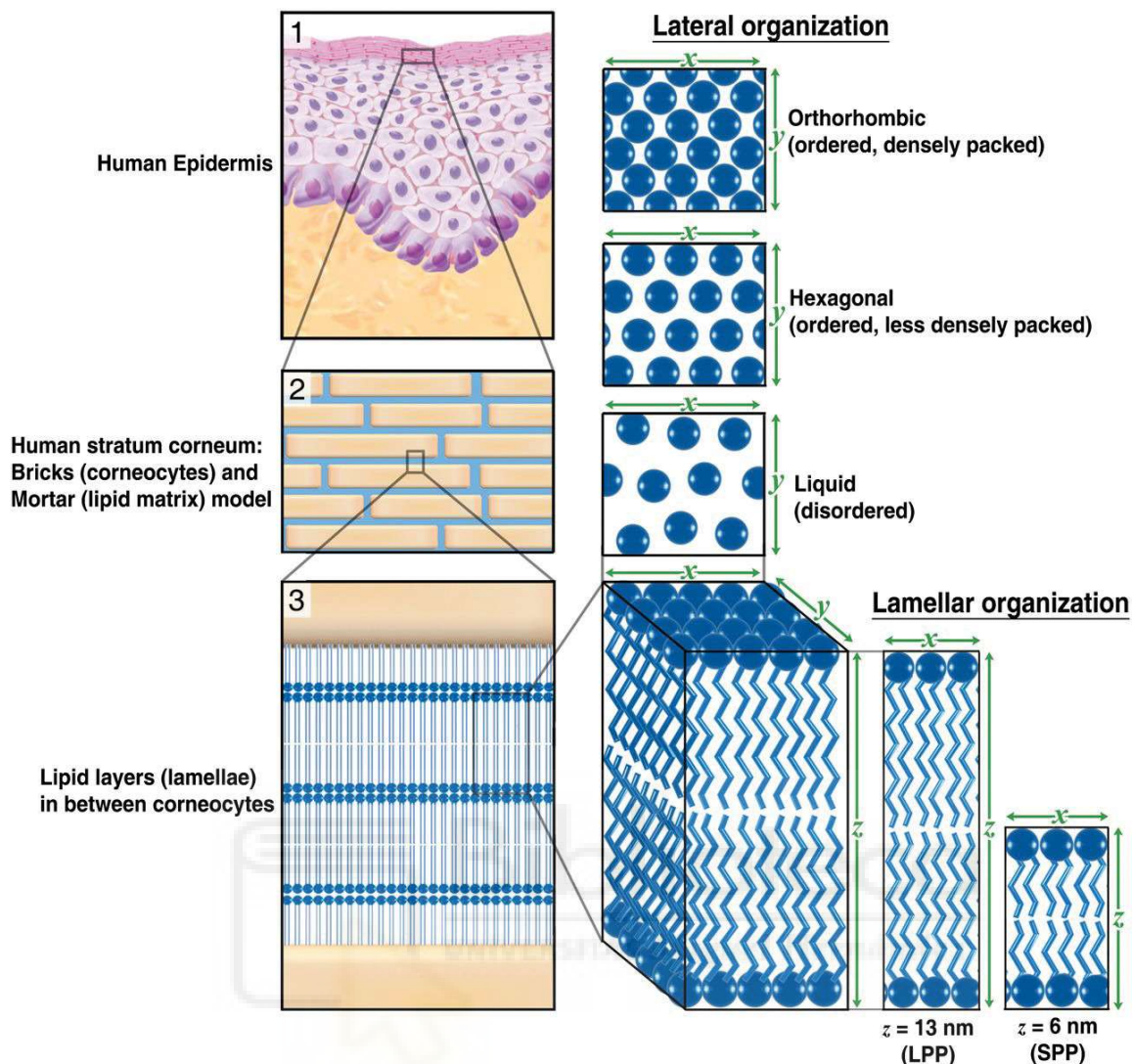


Figura 2. Organización estructural del estrato córneo humano. Representación del modelo de “ladrillos y mortero” con corneocitos rodeados por una matriz lipídica extracelular, junto con las posibles organizaciones laterales de los lípidos (ortorrómbica, hexagonal y líquida) y la organización lamelar con las fases LPP y SPP.

Los lípidos de la matriz intercelular del estrato córneo se autoensamblan en una organización lamelar de varias capas altamente organizada, que presenta dos fases coexistentes:

- Fase de Periodicidad Corta (SPP): con una distancia de repetición (el grosor de la bicapa más el espacio entre bicapas) de aproximadamente 6 nm. Contiene una menor fracción de ceramidas y colesterol que la LPP.
- Fase de Periodicidad Larga (LPP): con una distancia de aproximadamente 13 nm, considerada esencial para una función barrera competente. Está formada por ceramidas y colesterol, y específicamente estabilizada por las ceramidas de la subclase acilceramidas (EO).

Las acilceramidas se sintetizan a partir de ácidos grasos ω -hidroxilados de cadena ultra larga (ULCFA) que se esterifican con ácido linoleico en la posición ω y su biosíntesis es un sello distintivo de la diferenciación de los queratinocitos; la falta de estas ceramidas o de los ácidos grasos de cadena ultra larga necesarios para su formación provoca un deterioro severo de la función de barrera, como ocurre en ciertas ictiosis congénitas o en la dermatitis atópica [6].

Como se puede apreciar, la presencia de ácidos grasos libres no es indispensable para la formación de estas fases lamelares, ya que están regidas por las ceramidas. De igual manera, la proporción de colesterol/ceramidas (CHOL/CER) no es crucial para el comportamiento de la fase lamelar. La independencia de la formación lamelar respecto a los ácidos grasos libres (FFA) y a la ratio CHOL/CER sugiere que la matriz lipídica del SC es un sistema dirigido por ceramidas [3]. Biofísicamente, este hecho se explica porque el esqueleto estructural de la barrera lo constituyen las ceramidas de cadena ultra larga, especialmente las ceramidas EO, las cuales definen el espesor de la bicapa, principalmente en las LPPs. El colesterol y los ácidos grasos libres actúan como moduladores secundarios: el primero regula la fluidez aportando rigidez debido a su núcleo voluminoso, mientras que los FFA favorecen el empaquetamiento lateral de las cadenas y contribuyen a limitar la permeabilidad. Por tanto, aunque las ceramidas constituyen un componente estructural esencial, la arquitectura y las propiedades de la barrera dependen de la interacción conjunta entre las tres principales clases lipídicas [4].

En el plano lateral, los lípidos adoptan predominantemente un empaquetamiento ortorrómbico (cristalino), que es el más denso y empaquetado, limitando el movimiento molecular y la permeabilidad. Una menor cantidad de lípidos está empaquetada en una fase menos densa, de conformación hexagonal. Esta organización es típica de las capas más externas del estrato córneo, probablemente debido a la interacción de los lípidos que ejercen la función protectora con las secreciones sebáceas de la superficie de la piel, de acuerdo con estudios realizados empleando radiación infrarroja [4].

1.3. Composición única de la matriz lipídica intercelular del SC

A diferencia de otras membranas biológicas y otras capas de la epidermis, la matriz lipídica del SC se caracteriza por la ausencia total de fosfolípidos. Su composición es una mezcla única tricomponente de ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres, que se encuentran en una proporción molar cercana a 1:1:1 [4]. En cuanto a composición en masa, esta mezcla se distribuye aproximadamente en un 50% de ceramidas, un 25–27% de colesterol y un 10–15% de ácidos grasos libres. La complejidad química del sistema se ve complementada con lípidos minoritarios, como los ésteres de colesterol (10%) [2]. Esta organización específica permite la formación de una estructura lamelar en fase de gel, la cual constituye el principal factor limitante para la difusión de agua y solutos a través de la piel, ya que esta fase presenta una permeabilidad significativamente menor que cualquier mezcla lipídica no ordenada [7]. Dentro de esta mezcla, las ceramidas presentan una heterogeneidad excepcional, con unas 25 subclases identificadas. Son de especial importancia las ceramidas EO, como la acilceramida con esfingosina (EOS), que poseen una cadena de ácido graso de longitud ultra larga esterificada con ácido linoleico [3]. La presencia de estos lípidos de cadena muy larga o ultra larga es vital para conferir rigidez estructural y asegurar la estabilidad de la barrera cutánea. En esta mezcla el colesterol, al superar un umbral de solubilidad (proporción molar > 0.5), tiende a segregarse en una fase cristalina separada, contribuyendo a la estabilidad termodinámica del sistema, y difícil de observar en otras membranas biológicas [8].

Asimismo, la complejidad del estrato córneo se ve acentuada por la presencia de lípidos minoritarios como los ésteres de colesterol (~10%), sulfato de colesterol y acil-O-ceramidas, que, aunque presentes en menor cantidad, aumentan la hidrofobicidad global del cemento intercelular [2, 4, 8]. A diferencia de los modelos simplificados de laboratorio, las ceramidas endógenas presentan una gran diversidad no solo en sus cadenas acilo, sino también en sus bases esfingoides, incluyendo longitudes de C20 y C22 y cadenas de carbono impares, lo que genera una red de interacciones moleculares mucho más heterogénea y resiliente [6]. La cohesión está favorecida por el estado de protonación de los ácidos grasos libres, dado que su pKa aparente en estas mezclas es inusualmente elevado (6,2-7,3), la mayoría permanecen sin carga al pH ácido de la superficie cutánea (pH ≈ 5), lo que minimiza la repulsión electrostática entre las cabezas polares y promueve el mantenimiento de la bicapa [9].

1.4. Alteraciones del SC

Se ha comprobado que un aumento en el pH del SC afecta negativamente a las funciones de barrera permeable y microbiológica, induciendo inflamación e irritación, relacionándose así con la patología de la dermatitis atópica. Por ello resulta necesario mantener un pH constante, que se mantiene equilibrado por la presencia de ácidos grasos libres o ácido urocánico (derivado de la degradación de la filagrina). Respecto al envejecimiento cutáneo, este se manifiesta mediante una reducción crítica en la concentración de los tres pilares lipídicos fundamentales: ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres. Esta degradación cuantitativa, que representa aproximadamente un tercio menos de masa lipídica total en comparación con la piel joven, constituye la base de las anomalías estructurales observadas en las membranas intercelulares del estrato córneo senescente.

Además, se observan cambios específicos en las ceramidas del estrato córneo, como una disminución en la ceramida 2 (N-lignocerilesfingosina) y un aumento en la ceramida 3 (ácido graso N-acilo no hidroxilado y fitoesfingosina) dentro de la epidermis envejecida [10]. Si bien las bases moleculares de estos hallazgos relacionados con la edad se han explorado parcialmente, los posibles mecanismos incluyen aberraciones en las proteínas de unión al elemento regulador de esteroides, las cuales regulan la síntesis de colesterol y ácidos grasos, y la disrupción de las vías de señalización que regulan la vía metabólica de los lípidos epidérmicos [11].

1.5. Nuevos abordajes sobre la estructura del estrato córneo

El modelo tradicional de ladrillos y mortero ha sido recientemente ampliado por una perspectiva biofísica que propone que la formación del estrato córneo está gobernada por la separación de fases líquido-líquido (LLPS) [12]. En este abordaje, cuando la filagrina, proteína que conforma el envoltorio cornificado de los corneocitos y se encuentra intrínsecamente desordenada, alcanza una concentración crítica en la capa granular, forma condensados dinámicos de queratohialina.

Este proceso de condensación y su posterior disolución, regulada por cambios bruscos en el pH intracelular, es fundamental para la corneoptosis, proceso de muerte celular programada de los queratinocitos para producir corneocitos, permitiendo la remodelación masiva del citoplasma y el aplanamiento celular que da lugar a la arquitectura lamelar de la barrera. La relevancia de esta perspectiva radica en que aporta nueva información sobre cómo la filagrina dirige activamente la remodelación celular y la cornificación para generar la barrera cutánea. También permite reinterpretar enfermedades como la dermatitis atópica o la ictiosis vulgar, donde las mutaciones patogénicas alteran las fronteras de fase o las propiedades viscosas de los condensados de filagrina. De este modo, la LLPS proporciona un marco termodinámico unificado que explica cómo la organización autónoma de proteínas y lípidos genera una barrera cutánea dinámica y capaz de responder a variaciones ambientales de temperatura y humedad [12].

1.6. Justificación del estudio *in silico*

Independientemente de los avances en técnicas como la difracción de rayos X o de neutrones, estas metodologías proporcionan únicamente información sobre "promedios" de la estructura, presentando limitaciones para resolver la disposición molecular precisa de cada componente en sistemas tan complejos. La dinámica molecular (DM) surge como una herramienta fundamental para estudiar el SC *in silico*, ya que permite obtener detalles a nivel atómico de las configuraciones lipídicas y su dinámica. La DM facilita la observación de interacciones específicas, como los patrones de puentes de hidrógeno y la orientación de las cadenas, que son imposibles de capturar experimentalmente pero que dictan la eficacia de la barrera cutánea. La utilización de simulaciones facilita la observación detallada de interacciones específicas, tales como:

- Patrones de puentes de hidrógeno: la DM permite cuantificar y comparar la formación de redes de hidrógeno tanto entre lípidos como con el agua, una interacción crítica para la cohesión y estabilidad térmica de la barrera que es extremadamente difícil de aislar experimentalmente.
- Orientación y empaquetamiento de las cadenas: a través de la simulación, es posible determinar con precisión el ángulo de inclinación, la interdigitación de las cadenas hidrocarbonadas y los parámetros de orden.

- Dinámica de segregación: permite monitorizar cómo la composición lipídica única del SC (basada en ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres, con ausencia de fosfolípidos) influye en la formación de dominios y en la fluidez del sistema.

Finalmente, el modelado computacional permite evaluar hipótesis estructurales — como los modelos de bicapas extendidas— en un entorno controlado, proporcionando una base teórica sólida para interpretar los datos experimentales y diseñar nuevas estrategias biotecnológicas para la reparación de la barrera cutánea [8].

1.7. Objetivos del TFG

El objetivo principal de este TFG es analizar la reorganización molecular y la distribución lateral de los lípidos del sistema tras la simulación, relacionando su localización y empaquetamiento con las propiedades estructurales de la matriz lipídica del estrato córneo. Asimismo, se estudia la posible formación de dominios y se exponen las principales aplicaciones biotecnológicas de la dinámica molecular en el estudio de la barrera cutánea.

Para ello, se analizan las variaciones locales del grosor de la bicapa y su posible relación con la composición, el empaquetamiento y la interdigitación de los lípidos, con el fin de caracterizar la heterogeneidad estructural del sistema.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Simulación de dinámica molecular

Se realizó el estudio del estrato córneo mediante simulaciones de dinámica molecular de todos los átomos sin restricciones utilizando el software NAMD 2.14. Para la descripción de los lípidos se emplearon los campos de fuerza CHARMM36. Todas las simulaciones se llevaron a cabo en el conjunto isobárico-isotérmico (NPT), manteniendo una presión constante de 1 atm y una temperatura de 310 K. El paso de integración temporal se fijó en 1 fs. Las coordenadas del sistema se grabaron para su posterior análisis cada 10.000 pasos (equivalente a un intervalo de 10 ps o 0,01 ns por imagen) [13].

<i>Nombre</i>	<i>Ácidos grasos</i>	<i>Número total</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
<i>Colesterol (total 100)</i>			
CHOL (Colesterol)		100	25%
<i>Ácidos grasos (total 100)</i>			
PAL (Ácido Palmítico)	(16:0)	2	0.5%
STE (Ácido Esteárico)	(18:0)	4	1%
ARA (Ácido Araquidónico)	(20:0)	8	2%
BEH (Ácido Behénico)	(22:0)	46	11.5%
LIGN (Ácido Lignocérico)	(24:0)	40	10%
<i>Ceramidas (total 200)</i>			
CER3 (Ceramida 3)	(18:0 / 24:0)	68	17%
CER6 (Ceramida 6)	(18:0 / 24:0)	68	17%
CER200 (Ceramida 200)	(18:1 / 20:0)	16	4%
CER220 (Ceramida 220)	(18:1 / 22:0)	16	4%
CER240 (Ceramida 240)	(18:1 / 24:0)	16	4%
CER241 (Ceramida 241)	(18:1 / 24:1)	16	4%
<i>Total lípidos: 400</i>			
<i>Total lípidos por monocapa: 200</i>			

Tabla 1. Composición y distribución de las especies lipídicas del sistema, indicando el número total de moléculas y su porcentaje relativo.

La temperatura se mantuvo constante mediante la dinámica de Langevin, con un coeficiente de amortiguamiento γ de $0,5 \text{ ps}^{-1}$. La presión se controló a través del método de Langevin de Nosé-Hoover. Para el cálculo de las interacciones electrostáticas de largo alcance, se utilizó el método PME (*Particle Mesh Ewald*) con condiciones periódicas de contorno. Las interacciones no enlazadas se cortaron a una distancia de $12 \text{ \AA}$, aplicando una función de suavizado a partir de los $10 \text{ \AA}$. Antes de la trayectoria de producción, todos los sistemas se sometieron a una minimización de energía (150.000 pasos) para eliminar contactos atómicos desfavorables, seguida de una fase de equilibrado de 10 ns. Los lípidos en las membranas se distribuyeron de manera aleatoria, con el fin de estudiar la disposición aleatoria final. El sistema se hidrató con un exceso de agua (14.836 moléculas de agua modelo TIP3P), resultando en un sistema total de 84.672 átomos. Las dimensiones iniciales de la caja de simulación, de tipo tetragonal, fueron de aproximadamente $95.17 \text{ \AA}$ en los ejes x e y, con una longitud de $100 \text{ \AA}$ en el eje z. La normal de la bicapa se situó paralela al eje z. La proporción molar lipídica fisiológica es cercana a 1:1:1 [4], aunque con una sutil mayor cantidad de ceramidas. En cambio, en el sistema empleado la proporción lipídica CER:CHOL:FFA es de 2:1:1, al tratarse de una simplificación con la diversidad lipídica esencial y enfocada en reforzar el análisis del rol esencial que desempeñan las ceramidas.

2.2. Sistema simulado del SC

Las bicapas lipídicas se construyeron utilizando el servidor web CHARMM-GUI. Los sistemas se prepararon en un entorno electrostáticamente neutro, incluyendo NaCl en condiciones fisiológicas (150 mM) y un exceso de agua, empleando el modelo TIP3P para las moléculas de agua.

La geometría del sistema consistió en una caja rectangular donde la normal de la bicapa se situó paralela al eje z, mientras que la superficie de la membrana constituyó el plano x-y. Se permitió que la altura de la caja de simulación y el área de la sección transversal fluctuaran de manera independiente. Se aplicó un control de presión por separado e independiente para las direcciones lateral y normal al plano de la membrana [14].

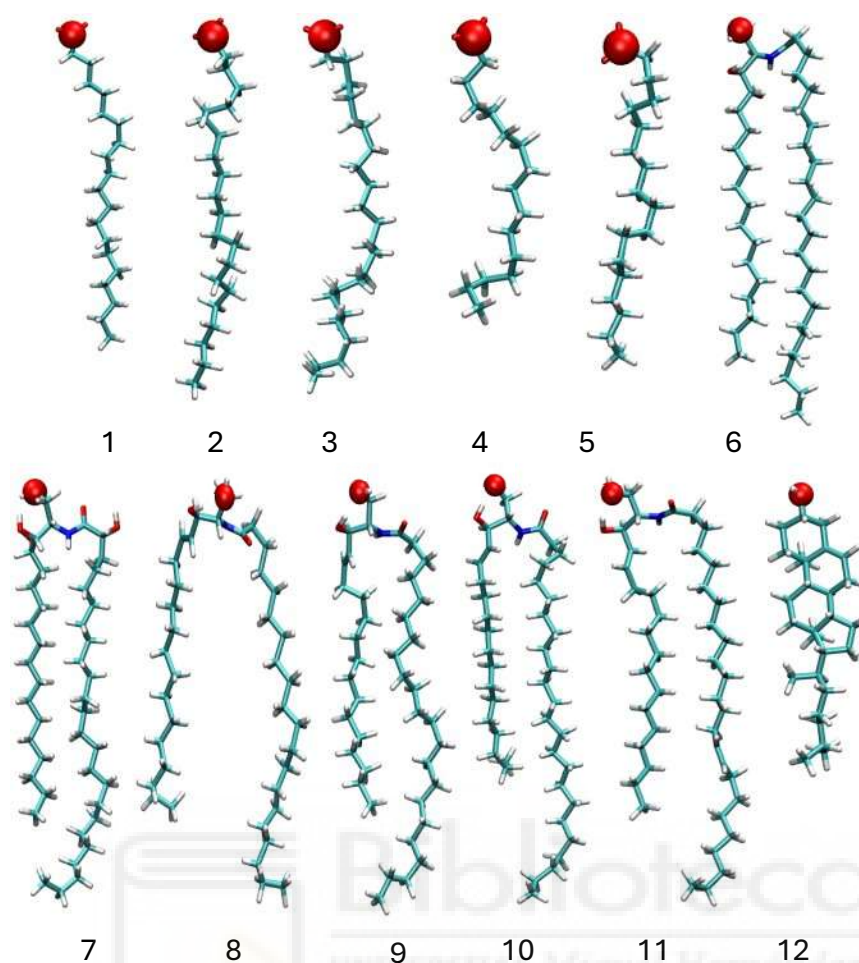


Figura 3. Representación de las distintas especies lipídicas del sistema (1.ARA 2.BEH 3.LIGN 4.PAL 5.STE 6.CER3 7.CER6 8.CER200 9.CER220 10.CER240 11.CER241 12.CHOL) con el átomo O1 resaltado en rojo en cada molécula.

Los lípidos se dispusieron inicialmente de manera aleatoria en un sistema organizado y simétrico. En esta configuración, las cabezas polares se disponen en contacto con el agua del sistema, y las colas hidrofóbicas se orientan hacia el interior de la membrana. Se puede apreciar la formación de dos monocapas de grosor idéntico y constante, con todos los lípidos perpendiculares al eje central de la bicapa.

Esta disposición inicial (Figura 4) es una representación a partir de la cual evoluciona el sistema, en ningún caso se trata de la estructura real del estrato córneo. El objeto de estudio será la organización autónoma espontánea de estas moléculas, con el fin de analizar la posible formación de dominios y la estructura real del estrato córneo en la piel.

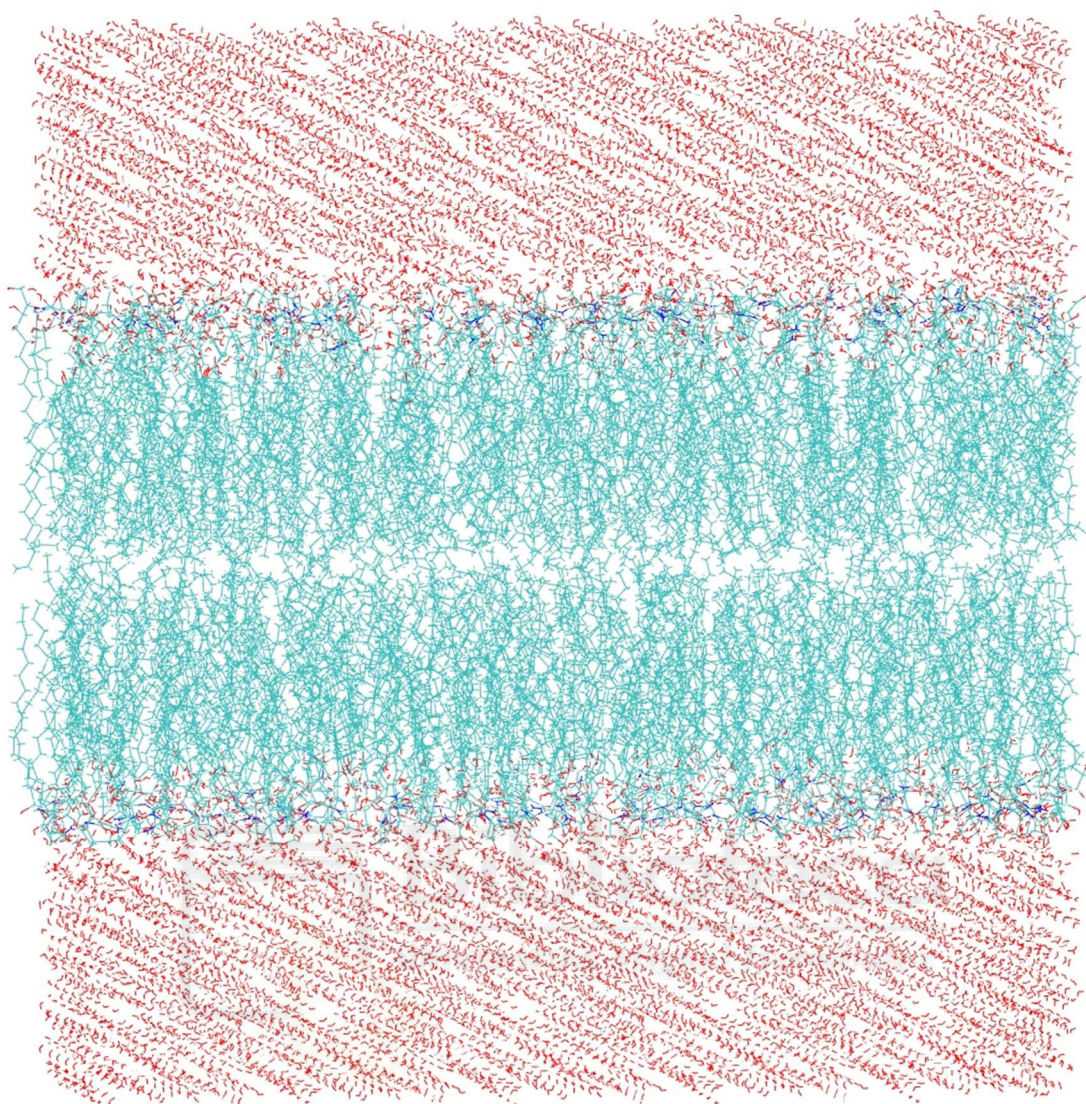


Figura 4. Organización inicial del sistema en dos monocapas simétricas y de grosor idéntico y constante.

2.3. Análisis de la trayectoria

Para el procesamiento, análisis y visualización de las trayectorias de dinámica molecular, se utilizó el software VMD (Visual Molecular Dynamics). La duración total de la simulación fue de 800 ns, y la fase de análisis de resultados comprende los últimos 30 ns de simulación, pues tiene lugar cuando se considera que el sistema se ha estabilizado y ha alcanzado el estado estacionario. Este análisis se complementó con diversos scripts personalizados y el uso de complementos especializados integrados en VMD:

- 1. Parámetros de orden y empaquetamiento:** El S_{CD} se calculó sistemáticamente para caracterizar la fluidez y el orden de las cadenas hidrocarbonadas. Un valor de 0 indica un desorden completo, mientras que un valor de 0,5 representa un orden total a lo largo de la normal. En casos de desorganización extrema, como en la formación de poros, valores negativos altos indican que las moléculas se orientan de forma paralela a la superficie de la membrana.
- 2. Análisis de puentes de hidrógeno y contactos:** Los puentes de hidrógeno se definieron siguiendo criterios geométricos: una distancia menor de 3 Å entre los átomos aceptor y donador, y un ángulo aceptor-H-donador de al menos 150°. Además, se determinó la frecuencia de contactos moleculares y la probabilidad de interacción entre residuos específicos y tipos de lípidos utilizando herramientas de Voronoi y triangulación de Qhull para el cálculo de áreas superficiales.
- 3. Dinámica de difusión:** Los coeficientes de difusión, tanto en el plano lateral (x-y) como en la dirección normal (z), se calcularon mediante el complemento *Diffusion Coefficient Tool* de VMD. Este análisis permitió comparar la movilidad de los componentes bioactivos frente a la de los lípidos de la membrana.
- 4. Localización y perfiles de densidad:** se determinó la localización precisa de las moléculas y sus átomos específicos a lo largo del eje z con los siguientes métodos:
 - 4.1. Perfiles de densidad de masa: Calculados habitualmente mediante el plugin *Density Profile Tool* de VMD, permitiendo observar la distribución de los diferentes átomos de las moléculas.
 - 4.2. Centro de masas (COM): Se monitorizó la variación temporal del COM de las moléculas para evaluar su grado de inserción y movimiento relativo durante los 800 ns de simulación.
 - 4.3. Promediado temporal: Los datos estructurales y de densidad se obtuvieron promediando las configuraciones adoptadas por el sistema cuando alcanzó el estado estacionario.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Centros de masas (COM)

El seguimiento del centro de masas de cada lípido a lo largo del eje z permite evaluar la estabilidad de la arquitectura lamelar y la profundidad de inserción de cada componente durante los 800 ns de simulación. Las trayectorias reflejan una bicapa sin alteraciones significativas, donde la mayoría de los lípidos permanecen confinados en su monocapa de origen, representados por bandas de densidad bien definidas a una distancia de aproximadamente $z \approx 20$ Å del centro de la membrana. No obstante, en los componentes de cadena más corta (ácido araquidónico y palmítico) y en el colesterol, se identifican eventos puntuales en los cuales las moléculas cruzan el plano central ($z \approx 0$ Å) sin integrarse en la capa opuesta. Cabe destacar que en el caso del ácido esteárico, que tiene una cadena corta, aunque no cruza el plano central, se aprecia más fluctuación en la señal, evidenciando una mayor movilidad. Este dinamismo es notablemente inferior en las ceramidas de cadena muy larga, cuyas trayectorias permanecen planas y constantes, lo que respalda su función como anclajes que limitan la movilidad transversal y mantienen el espesor lamelar necesario para la integridad de la barrera cutánea (Figura 5).

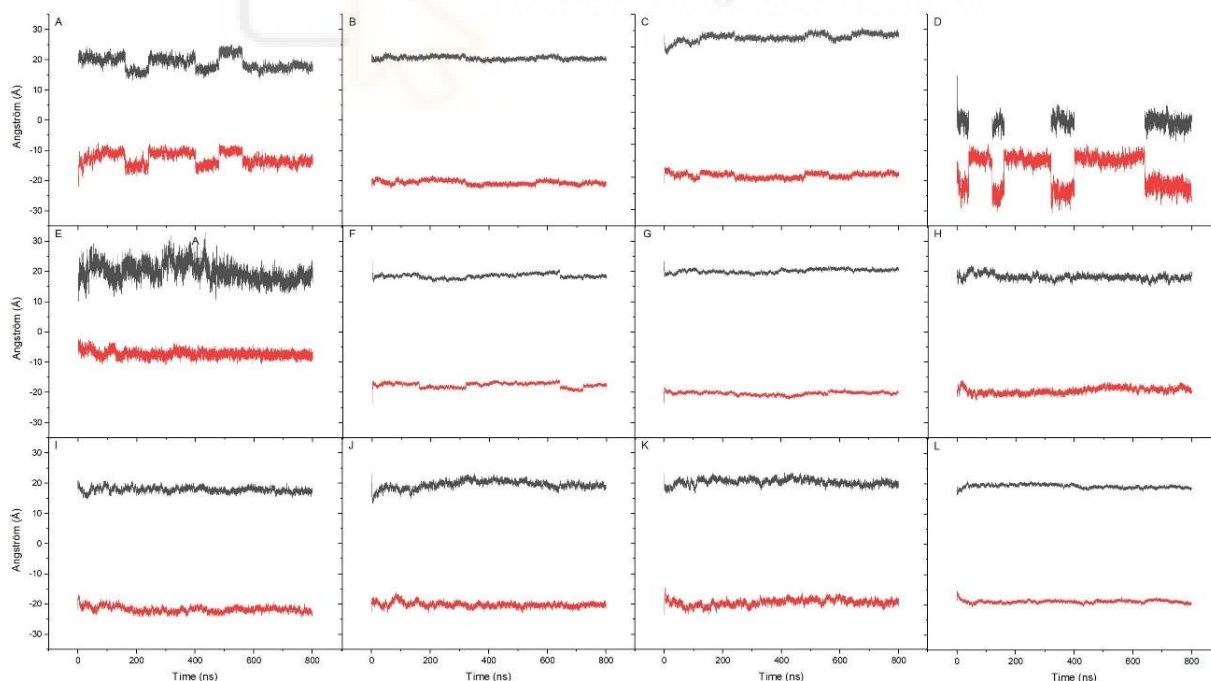


Figura 5. Variación de la distancia COM de la molécula entera en el eje z (tomando como referencia el centro de la membrana) para cada lípido del sistema: (A) ARA (B) BEH (C) LIGN (D) PAL (E) STE (F) CER3 (G) CER6 (H) CER200 (I) CER220 (J) CER240 (K) CER241 (L) CHOL. Las líneas rojas indican la parte inferior de la bicapa y las negras indican la parte superior.

El átomo empleado como referencia para el seguimiento del centro de masas (COM) en los análisis de distribución y perfiles de densidad, correspondiente al átomo de oxígeno O1 de cada molécula, aparece indicado en rojo en la Figura 3. Resulta pertinente remarcar que, para los posteriores análisis de resultados se han considerado únicamente los últimos 30 ns de simulación, período en el que el sistema ha alcanzado el estado estacionario.

3.2 Difusión

La movilidad molecular se ha evaluado mediante los coeficientes de difusión en el plano lateral (x-y) y en la dirección normal (z), proporcionando un indicador directo de la fase lipídica del sistema (Figura 6). En el plano lateral, los resultados muestran una marcada heterogeneidad; el ácido palmítico (PAL) destaca con un coeficiente de difusión elevado ($\approx 30 \text{ Å}^2/\text{ns}$), reflejando una alta movilidad dentro de la monocapa por la corta longitud de su cadena, pero de escasa relevancia, debido a que únicamente hay dos moléculas de este tipo en el sistema. En contraste, las ceramidas dominantes (CER3, CER6) y el colesterol presentan una difusión lateral uniforme y moderada ($\approx 7 \text{ Å}^2/\text{ns}$), apoyando la formación de una matriz ortorrómbica con baja fluidez.

En la dirección normal (z), los coeficientes son notoriamente inferiores a los laterales, lo cual es coherente con una estructura bicapa bien organizada. Las ceramidas de cadena larga (CER200-CER241) muestran coeficientes de difusión en z prácticamente nulos, subrayando su papel en el mantenimiento de la estabilidad vertical del estrato córneo frente a la difusión de agua y solutos.

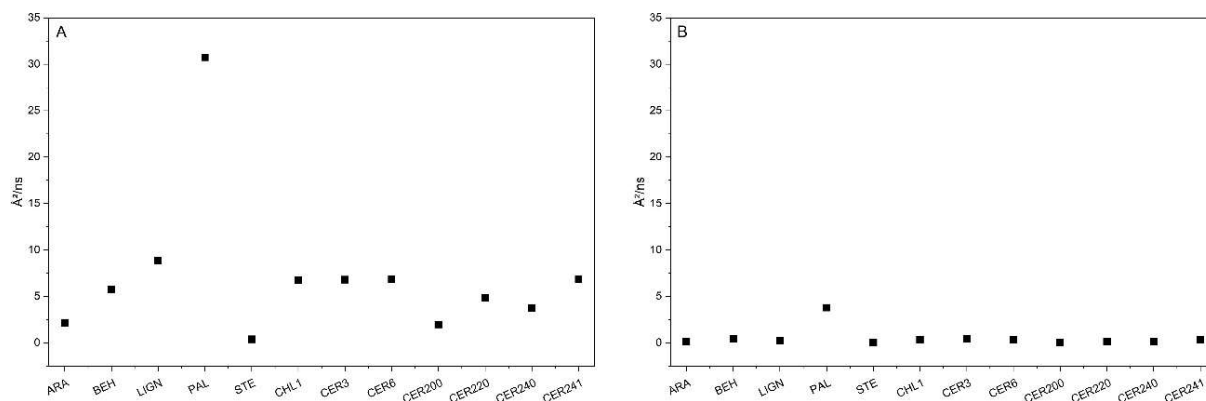


Figura 6. Coeficientes de difusión ($\text{Å}^2/\text{ns}$) laterales (A) [xy] y normales (B) [z] a la membrana para cada lípido del sistema.

3.3 Parámetro de orden del deuterio (S_{CD})

El parámetro de orden (S_{CD}) proporciona una medida cuantitativa de la anisotropía y el grado de empaquetamiento de las cadenas hidrocarbonadas en la bicapa, siendo fundamental para caracterizar la fluidez del estrato córneo: valores cercanos a 0,5 representan un orden máximo a lo largo de la normal de la bicapa (típico de fases cristalinas u ortorrómbicas), mientras que valores que tienden a 0 indican un desorden total (fase fluida). La fórmula empleada para el cálculo del S_{CD} es la siguiente:

$$S_{CD} = \frac{1}{2} (3 \langle \cos^2 \theta \rangle - 1) ; \theta = \text{ángulo entre el vector C-H y la normal de la bicapa.}$$

En los perfiles obtenidos para el sistema, se observa la característica forma de meseta donde los valores de orden máximo se localizan en los carbonos centrales de la cadena (C4-C12), seguidos de una caída pronunciada hacia el metilo terminal debido al incremento de la libertad conformacional en el núcleo hidrofóbico de la membrana. En el estrato córneo en condiciones normales, la presencia de ácidos grasos saturados de cadena larga es determinante para mantener la organización ortorrómbica densa que garantiza la eficacia de la barrera cutánea.

En cuanto a los ácidos grasos libres, se revela un empaquetamiento molecular altamente estructurado, con valores máximos situados entre 0,35 y 0,45 en la región central de las cadenas saturadas PAL, BEH y LIGN. Esta estabilidad conformacional es indicativa de una fase lateral ortorrómbica o de gel, configuración indispensable para garantizar la función barrera frente a la pérdida de agua transepidérmica.

La caída generalizada de los valores hacia los carbonos terminales en todos los perfiles refleja el incremento característico de la libertad rotacional y el desorden en el núcleo hidrofóbico de la bicapa (Figura 7). En síntesis, el hecho de que la mayoría de los FFA mantengan valores superiores a 0,35 en la zona media de sus cadenas respalda que el modelo ha logrado autoorganizarse en una fase ortorrómbica muy estructurada, reproduciendo características compatibles con una matriz lipídica altamente ordenada.

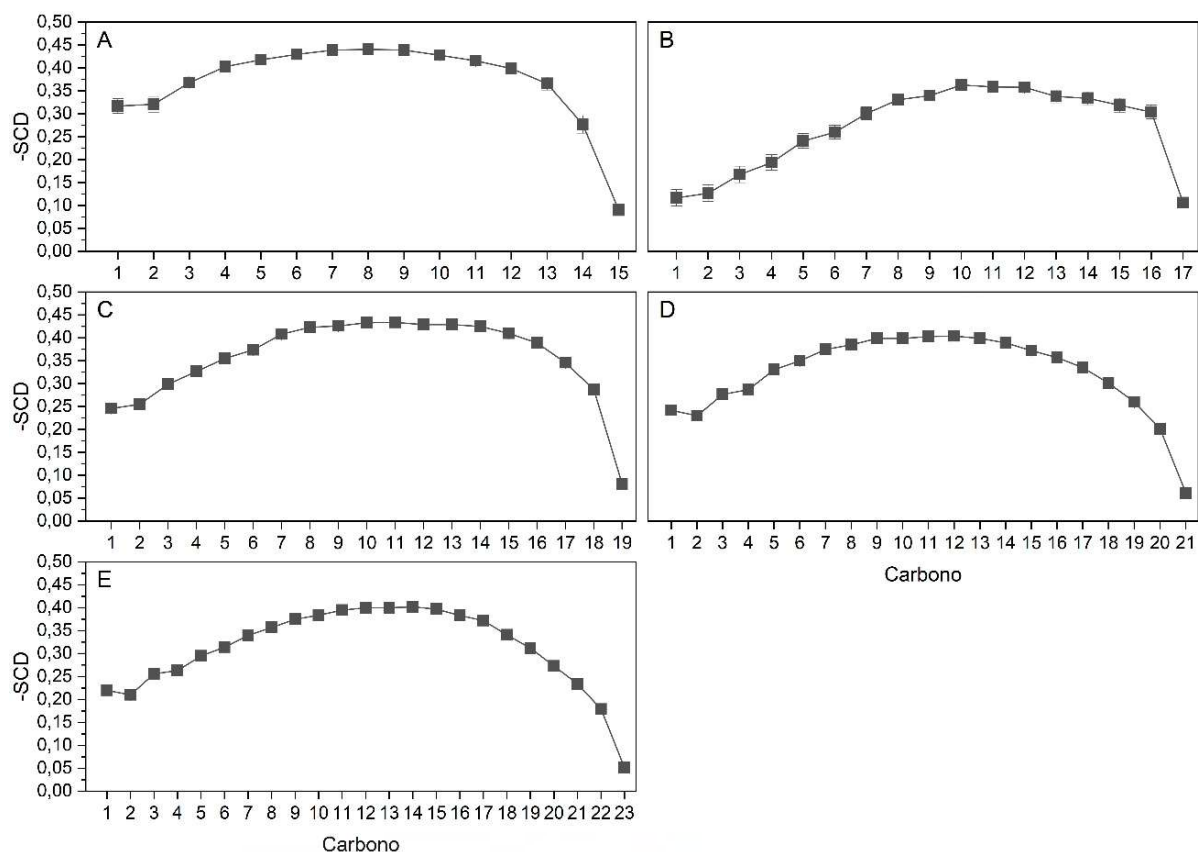


Figura 7. Promedio del parámetro de orden para cada ácido graso libre. A.PAL B.STE C.ARA D.BEH E.LIGN

En cuanto al S_{CD} de las ceramidas (Figura 8), se identifica que la cadena acilo (Cadena 1) mantiene un grado de orden superior a la cadena base de esfingosina (Cadena 2) en la mayoría de los perfiles analizados, reflejando su papel determinante en la estabilidad estructural del sistema. Los perfiles obtenidos para las ceramidas sugieren una asimetría dinámica entre la cadena acilo y la base esfingoide, siendo la primera significativamente más organizada en todas las especies analizadas. Las ceramidas predominantes, CER3 y CER6, mantienen una meseta de orden elevada (aproximadamente 0,40) que sustenta la cohesión lateral de la matriz lipídica, mientras que las variantes de cadena muy larga (CER200-240) actúan como anclajes estructurales estabilizadores del espesor lamelar. Por su parte, la ceramida CER241 destaca por mostrar una disminución puntual y drástica del orden alrededor del carbono 15 de su cadena acilo, evidenciando el desorden local inducido por la presencia de un doble enlace en esa posición. Al igual que en los ácidos grasos, el descenso sistemático del parámetro hacia el metilo terminal subraya la fluidez intrínseca del centro de la membrana en comparación con la rigidez observada en la interfaz polar.

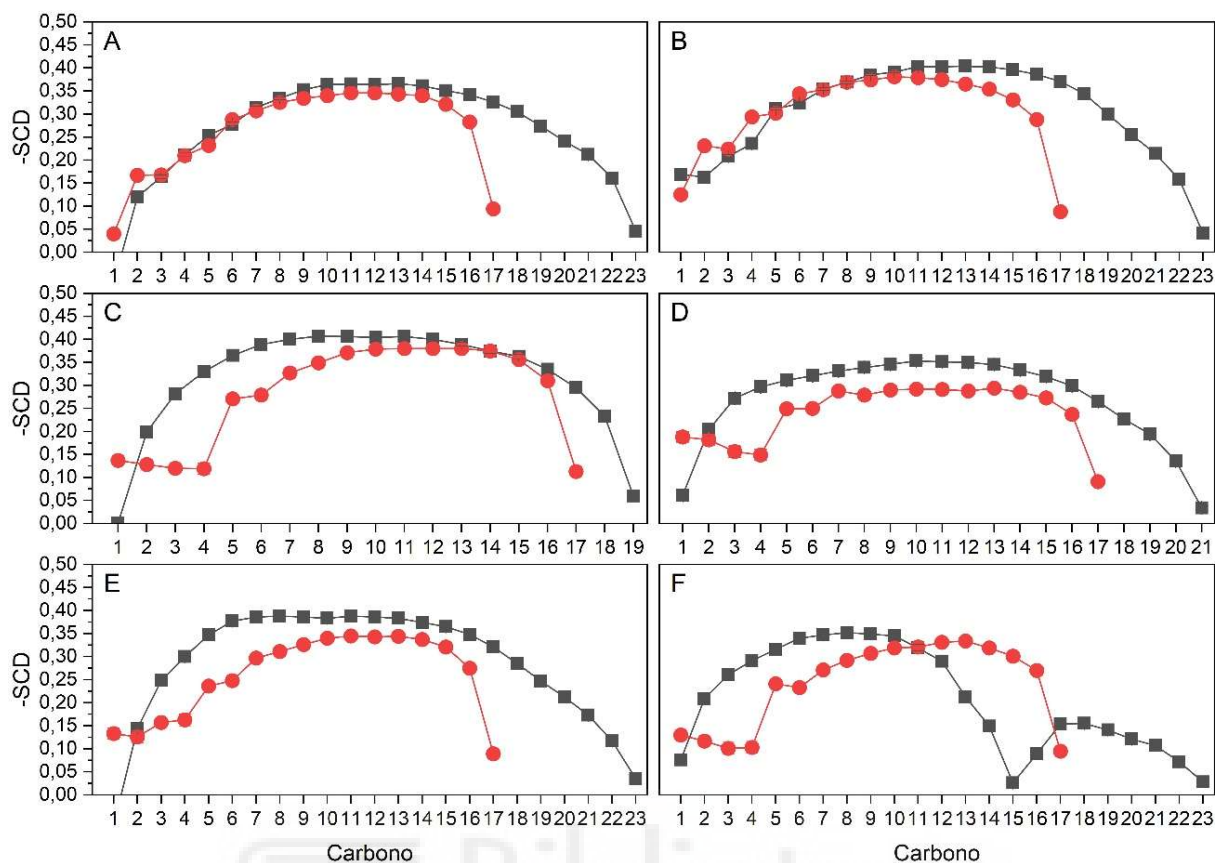


Figura 8. Promedio del parámetro de orden de las ceramidas del sistema. En gris se representa la cadena 1 y en rojo la cadena 2. A. CER3 B. CER6 C. CER200 D. CER220 E. CER240 F. CER241

Las gráficas del parámetro de orden SCD muestran diferencias claras entre los ácidos grasos libres y las ceramidas, reflejando el distinto comportamiento estructural de ambos tipos de lípidos dentro de la membrana del estrato córneo. La diferencia entre ambos tipos de lípidos tiene su origen en su estructura molecular: mientras que los ácidos grasos libres presentan una única cadena hidrocarbonada con una cabeza carboxílica, las ceramidas poseen dos cadenas y grupos funcionales como la amida y los hidroxilos, que permiten la formación de redes de enlaces de hidrógeno y favorecen un mayor grado de organización. Además, en las gráficas de los ácidos grasos se observan caídas más pronunciadas en los extremos de la cadena, especialmente en aquellas de menor longitud. En cambio, las ceramidas presentan curvas más uniformes y consistentes entre las distintas especies, manteniendo valores elevados de orden con una menor caída hacia los extremos incluso en cadenas largas, lo que refuerza su carácter estructural, sugiriendo un empaquetamiento más compacto y mantenido.

Estas diferencias están directamente relacionadas con la función que desempeñan en el estrato córneo. Las ceramidas constituyen el componente principal de la matriz lipídica y su elevado S_{CD} es coherente con su papel como elemento estructural clave en la organización lamelar del sistema. Por otra parte, los ácidos grasos libres desempeñan un papel de mantenimiento de la impermeabilidad, reflejado en un S_{CD} mayor que el de las ceramidas.

3.4 Puentes de hidrógeno

El análisis de los puentes de hidrógeno es de gran importancia para comprender la cohesión en la región de las cabezas polares. Debido a que el estrato córneo no cuenta con fosfolípidos, hay ausencia de grupos fosfato, y son los grupos amida, hidroxilo y carboxilo los que permiten formar una red específica de puentes de hidrógeno. (Figura 9). Los resultados muestran una red de interacciones densa y ramificada, donde la mayor frecuencia de contactos se localiza en las parejas formadas por las ceramidas de mayor abundancia, CER3-CER6, y en la interacción de estas con el colesterol (CER3-CHOL y CER6-CHOL), con valores promedio que oscilan entre 10 y 14 enlaces. Estas moléculas actúan como el núcleo estabilizador del sistema, permitiendo la formación de una matriz cohesiva. Cabe destacar que, al ser CER3 y CER6 las dos especies más abundantes del sistema, es coherente que muestren el mayor promedio de puentes de hidrógeno.

Por otro lado, las ceramidas de cadena muy larga (CER200-241) presentan una frecuencia de interacción menor por molécula, lo que sugiere una distribución más dispersa o un rol más enfocado en el anclaje estructural que en la cohesión lateral inmediata. El colesterol participa activamente como donador y aceptor frente a las ceramidas, mientras que su interacción con los ácidos grasos libres es mínima, reforzando la idea de una segregación funcional en la interfaz polar (Figura 9).

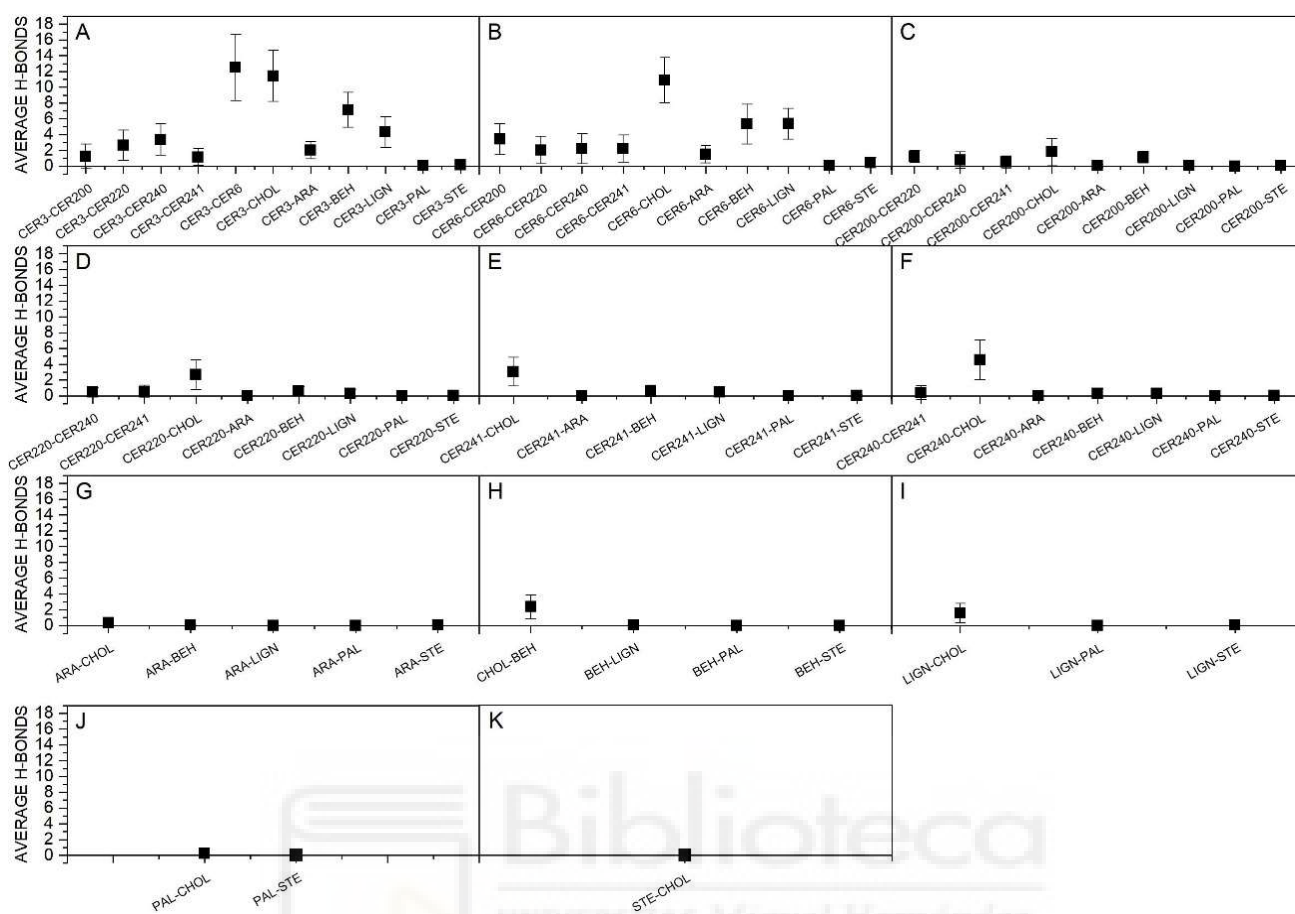


Figura 9. Promedio de interacciones de tipo puente de hidrógeno entre parejas de lípidos del sistema. A. Interacciones con CER3 B. Interacciones con CER6 C. Interacciones con CER200 D. Interacciones con CER220 E. Interacciones con CER240 F. Interacciones con CER241 G. Interacciones con ARA H. Interacciones con BEH I. Interacciones con LIGN J. Interacciones con PAL K. Interacciones con STE.

3.5 Conformación final de la bicapa

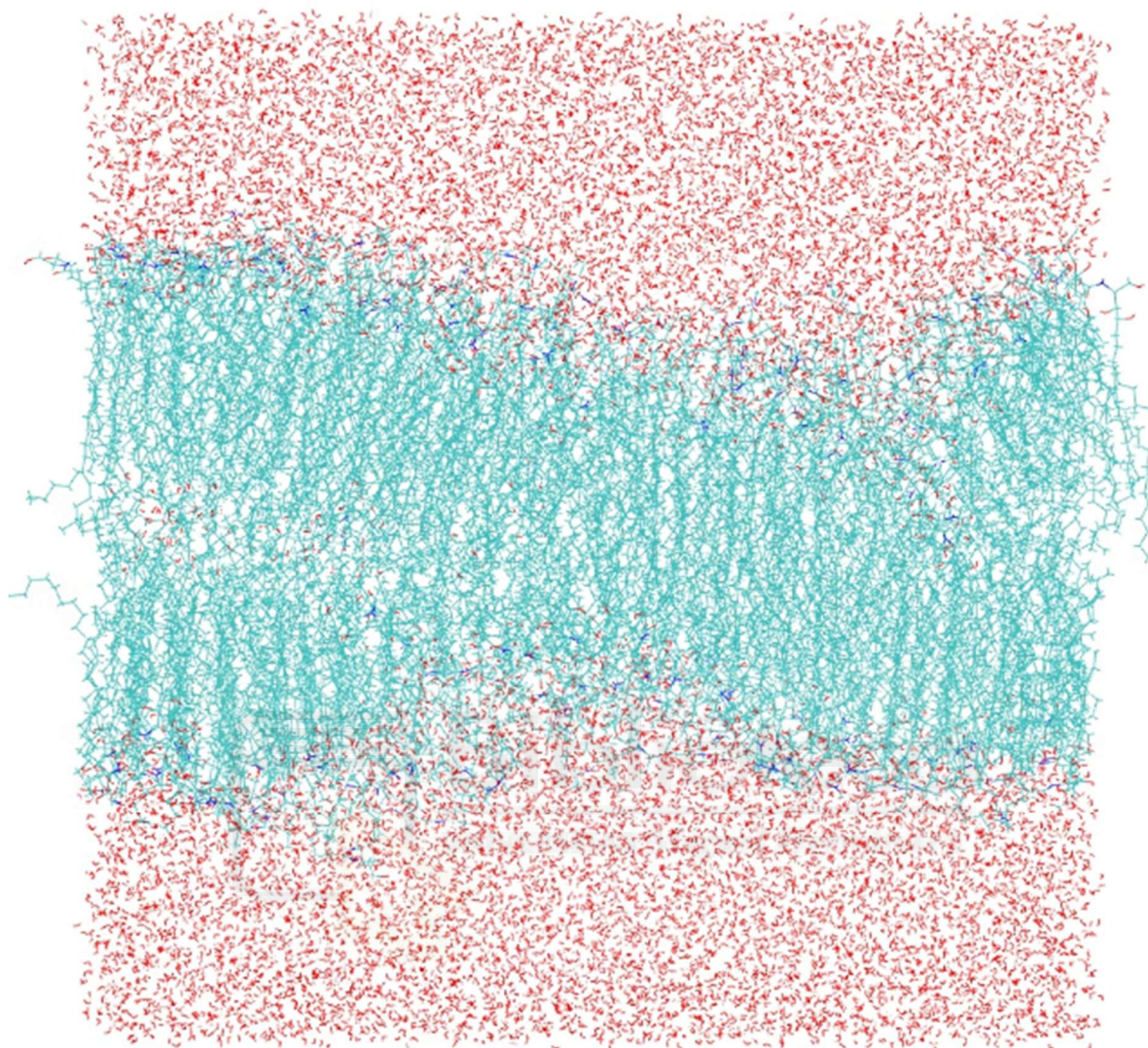


Figura 10. Conformación final de la bicapa adquirida tras 800 ns de simulación.

La conformación adquirida de manera espontánea por el sistema tras la simulación muestra una clara disminución del grosor en determinadas regiones de la bicapa. Inicialmente las moléculas se dispusieron de manera organizada, homogénea y con un orden aleatorio (Figura 4), por lo que el análisis de esta conformación final transmite información real sobre el comportamiento de la bicapa (Figura 10). Se observa un notable estrechamiento, formando una morfología ondulada. Tras el periodo de simulación, se observan lípidos que han atravesado el eje de simetría y la bicapa ya no presenta la alineación inicial. Como se analizó previamente en el análisis de COM, no se han observado movimientos de *flip-flop*.

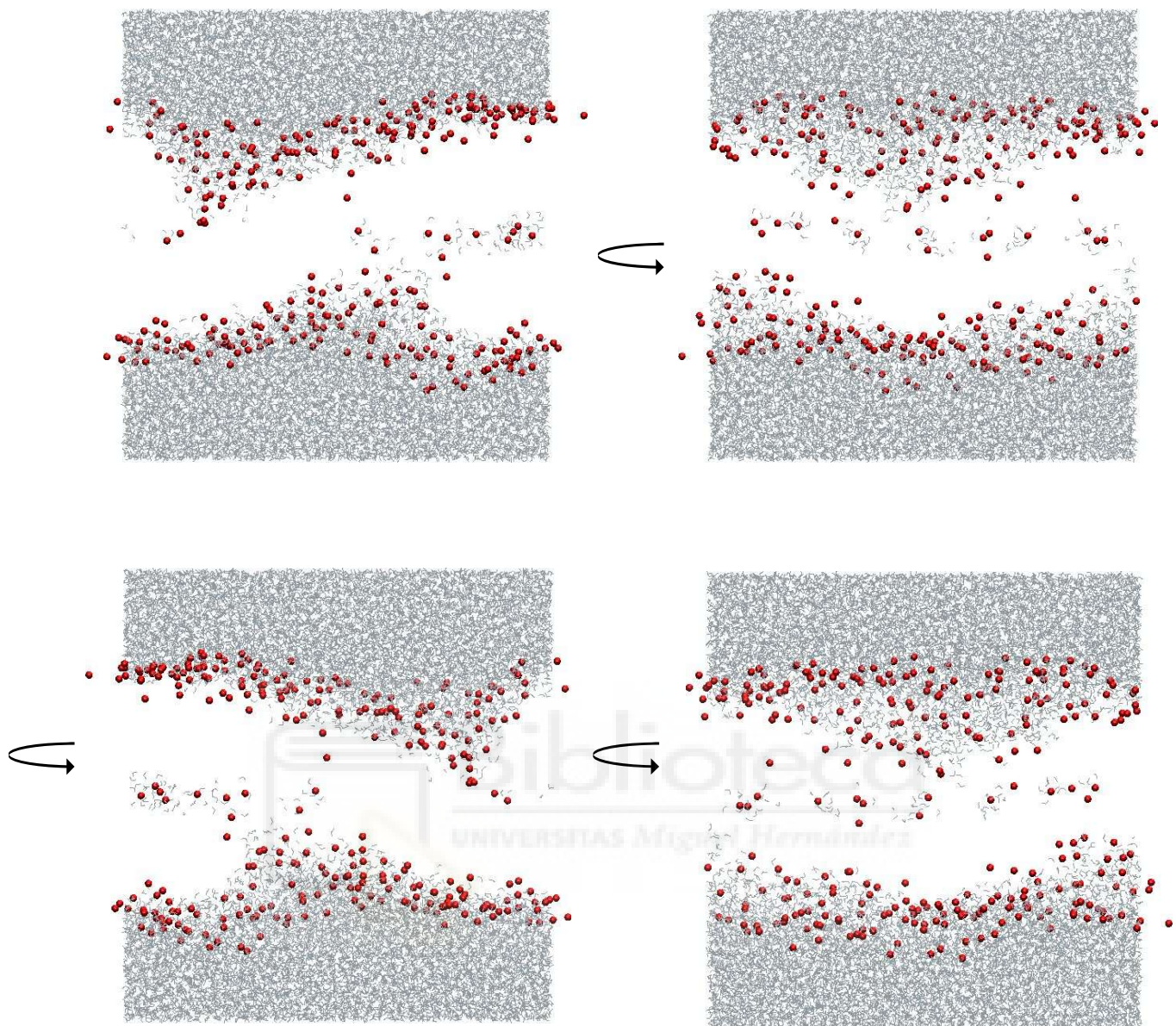


Figura 11. Diferentes vistas de la configuración final de la bicapa lipídica tras 800 ns de simulación. Los átomos O1 se muestran en rojo para resaltar la localización de los grupos polares. Se observa un núcleo hidrofóbico en la zona central de la bicapa y una interfase polar en la región externa.

En la Figura 11 se han resaltado en rojo los primeros átomos de oxígeno (O1) de las moléculas, sirviendo de referencia para visualizar con claridad la distribución de los grupos polares dentro del sistema, y en gris el agua del sistema. Los átomos O1 se distribuyen formando dos regiones aproximadamente paralelas correspondientes a las interfases de cada monocapa, mientras que la región central, asociada al núcleo hidrofóbico de la bicapa, apenas presenta átomos polares y moléculas de agua, reflejando una correcta segregación entre las zonas polares y apolares.

Las distintas vistas permiten apreciar la continuidad lateral de la bicapa y la ausencia de defectos estructurales significativos, lo que sugiere que el sistema ha alcanzado un estado estacionario que conserva la continuidad de la bicapa. Además, la distribución aproximadamente simétrica de los átomos O1 en ambas monocapas es consistente con una organización homogénea, típica de sistemas lipídicos altamente ordenados.

A pesar de la clara segregación de las regiones polares, se identificaron algunas moléculas cuyas regiones polares se localizaron de forma puntual en el interior hidrofóbico de la bicapa. Estas posiciones atípicas pueden estar relacionadas con fluctuaciones locales del sistema, derivada del dinamismo en las interacciones lipídicas. Junto a estos grupos polares, se encuentra un número reducido de moléculas de agua en posiciones internas, lo que indica que al modificar esta interfase se altera la permeabilidad, por lo que la exclusión del solvente no es absoluta. No obstante, estos eventos son minoritarios y no parecen alterar la organización global del núcleo hidrofóbico.

Las moléculas identificadas en estas posiciones internas corresponden principalmente a ácidos grasos, con mayor representación de los de menor longitud de cadena, y a determinadas especies de ceramidas, especialmente CER3 y CER6. No se detectaron moléculas de colesterol entre estos casos, probablemente debido a la menor flexibilidad conformacional impuesta por su núcleo esteroideo rígido. En total, se identificaron 15 moléculas en posiciones atípicas, lo que representa el 3,75 % de los 400 lípidos que componen el sistema. Por tanto, se trata de un fenómeno minoritario que no compromete la organización general de la bicapa. La mayor parte de los grupos polares permanece localizada en las interfases externas, mientras que la región central conserva un carácter predominantemente hidrofóbico.

En suma, la figura evidencia que el sistema evoluciona hacia una estructura coherente con la formación de lamelas compactas y mantenidas, alineada con la función protectora del estrato córneo, sin comprometer la fluidez y correcta adaptación del sistema frente a la presencia de corneocitos, que se encuentran embebidos en la matriz lipídica.

En las figuras 12A y 12B se muestra el mapa de grosor de la bicapa, proporcionando información sobre una distribución heterogénea del espesor del sistema desde una visión apical, evidenciando que la organización final del sistema no es completamente uniforme. Las regiones azuladas corresponden a zonas de menor grosor, mientras que las zonas verdes, amarillas, naranjas y rojas representan un aumento progresivo del espesor, sucesivamente. Se observan especialmente áreas de menor grosor en las regiones azuladas de la zona izquierda y central, y un dominio de mayor grosor en la región inferior derecha del mapa.

Resulta destacable que, en la región de menor grosor localizada en la zona izquierda de la figura, se observa una menor densidad superficial de lípidos, asociada a un aumento del área por lípido (APL). Esta organización podría estar relacionada con fenómenos de interdigitación entre las cadenas hidrocarbonadas de lípidos pertenecientes a monocapas opuestas, proceso en el que las ceramidas desempeñan un papel relevante.

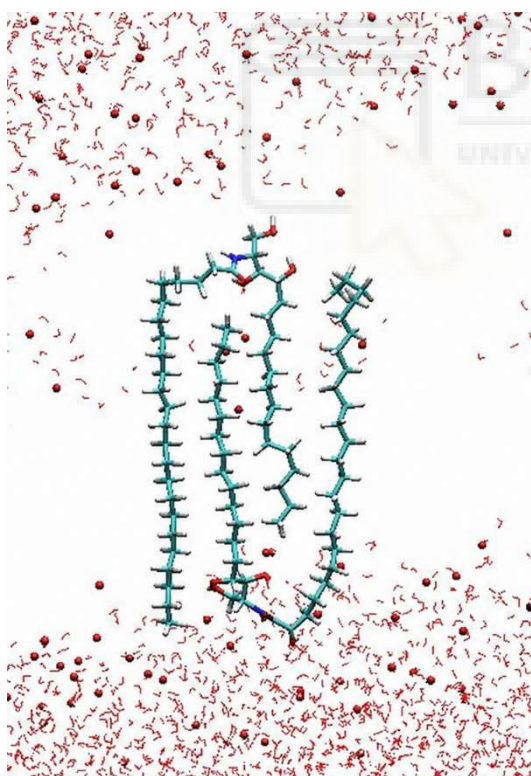


Figura 13. Interdigitación entre dos ceramidas (CER3-CER6) del sistema.

La interdigitación (Figura 13) implica la penetración parcial de las cadenas alifáticas de una monocapa en la región hidrofóbica de la monocapa contraria. Es predominante en el caso de las ceramidas, debido a que la disposición de sus dos cadenas hidrocarbonadas puede favorecer una mayor separación entre ellas, incrementando el área ocupada por cada lípido y facilitando la intercalación con las cadenas de ceramidas o ácidos grasos localizados en la monocapa opuesta. Como consecuencia, se reduce la distancia entre las regiones centrales de ambas monocapas y, por tanto, disminuye el grosor local de la bicapa.

Este fenómeno se produce principalmente mediante interacciones hidrofóbicas y fuerzas de dispersión entre las cadenas, sin que sea necesario el establecimiento de puentes de hidrógeno entre los lípidos de monocapas opuestas, debido a la carencia de un grupo polar que pudiera actuar como donador.

Dado que se trata de un fenómeno dinámico y local, la interdigitación puede verse favorecida cuando dos ceramidas situadas en monocapas opuestas coinciden espacialmente en una misma región de la membrana, permitiendo el entrecruzamiento transitorio de sus cadenas hidrocarbonadas. En esta región de menor grosor, como se puede comprobar en la vista apical del sistema, la presencia de moléculas de colesterol es reducida. Debido a la estructura rígida de la molécula y el elevado volumen de su núcleo esteroideo, el colesterol favorece un mayor ordenamiento de las cadenas lipídicas y restringe su movilidad conformacional. Por ello, una menor concentración local de colesterol podría estar asociada con una mayor interdigitación y una reducción del grosor de la bicapa.

Por el contrario, las regiones representadas mediante tonalidades más cálidas presentan un mayor grosor local. En estas zonas se observa una mayor densidad superficial de moléculas y, consecuentemente, un menor valor de APL. Esta organización sería compatible con una disposición más densa y menos interdigitada de las cadenas lipídicas, en la que las dos monocapas mantienen una mayor separación y se encuentra una mayor proporción de colesterol.

En conjunto, el mapa apoya que la bicapa presenta una heterogeneidad lateral clara, con dominios de diferente grosor y empaquetamiento. Esta organización es coherente con la segregación parcial de ceramidas, ácidos grasos libres y colesterol observada en la visión apical, y refuerza la idea de que la capacidad de limitar la permeación del estrato córneo depende no solo de la composición global del sistema, sino también de la distribución espacial y del empaquetamiento local de sus componentes lipídicos.

En las figuras 14 y 15, se puede observar la estructura final adquirida por los lípidos del sistema tras la simulación de dinámica molecular, representadas en conjunto e individualmente dentro del entorno de la bicapa, respectivamente. Esta visualización permite analizar de forma detallada la disposición y orientación que adopta cada tipo de lípido tras la autoorganización, complementando la información estructural obtenida a nivel global en las figuras anteriores.

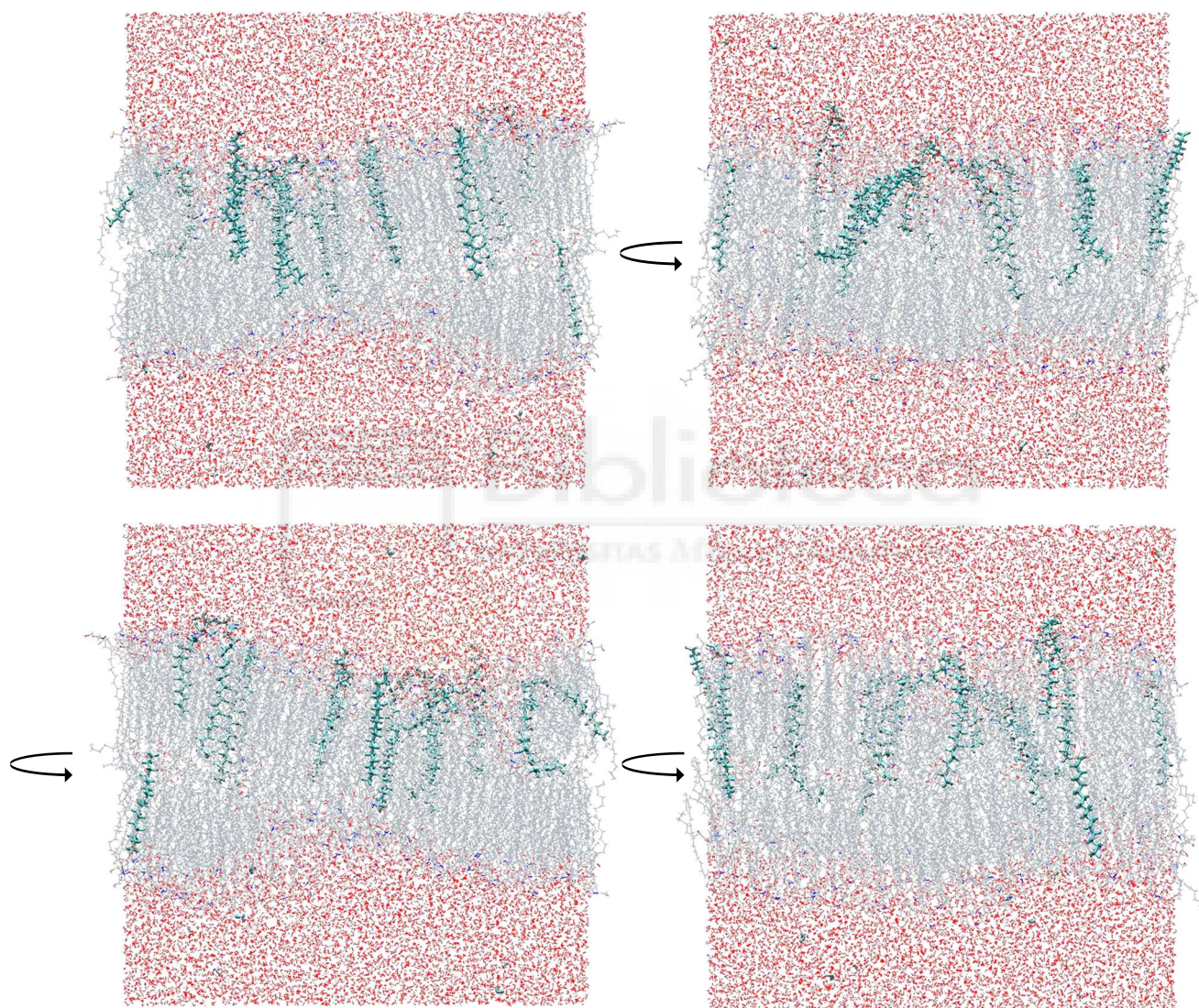


Figura 14. Diferentes vistas de la conformación final de la bicapa con la estructura 3D final de cada lípido destacada en cian.

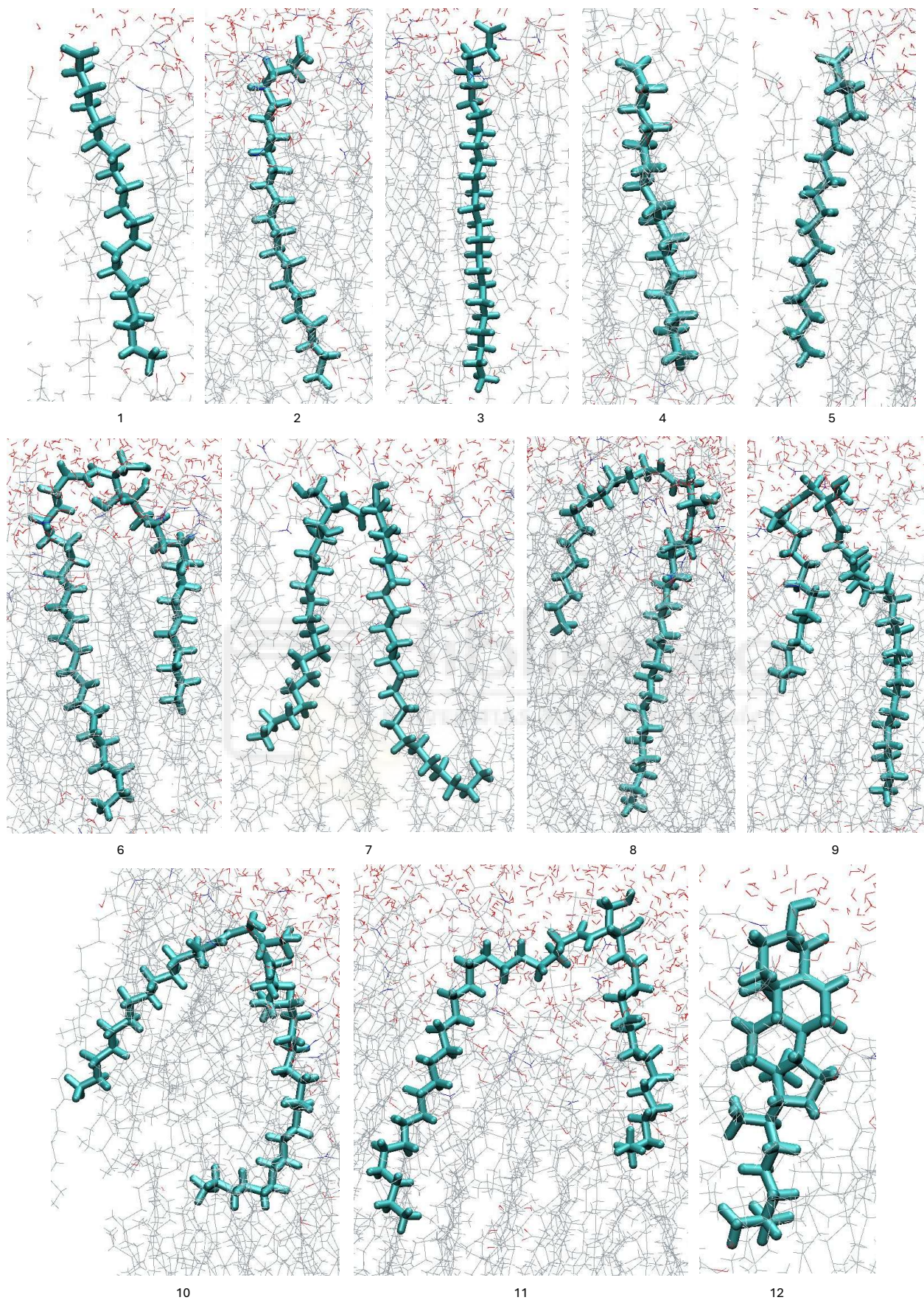


Figura 15. Estructura final de los lípidos del sistema. 1.ARA 2.BEH 3.LIGN 4.PAL 5.STE 6.CER3 7.CER6 8.CER200 9.CER220 10.CER240 11.CER241 12.CHOL

Se observa que los lípidos tienden a presentar conformaciones mayoritariamente extendidas, con las cadenas hidrocarbonadas orientadas a lo largo del eje normal de la bicapa. Este comportamiento es consistente con la organización lamelar descrita previamente, en la que las cadenas apolares se disponen hacia el interior hidrofóbico, favoreciendo un empaquetamiento compacto y estable.

Debido a la mayor complejidad estructural de algunos lípidos, especialmente las ceramidas, se aprecian ligeras curvaturas, flexiones o desviaciones en las moléculas. Aunque los perfiles del parámetro de orden S_{CD} indicaban un grado de orden similar en ambas familias de moléculas, la visualización de las conformaciones individuales muestra que los ácidos grasos libres presentan, en general, estructuras más rectilíneas y uniformes. Esta diferencia se debe a que los ácidos grasos poseen una única cadena hidrocarbonada, lo que limita su complejidad estructural.

En contraste, las ceramidas, al estar formadas por dos cadenas, presentan una mayor variabilidad conformacional, con ligeras curvaturas y desviaciones en sus cadenas. Por lo tanto, la conformación uniforme y sin perturbaciones de los ácidos grasos libres refuerza la idea de que favorecen la formación de la red ortorrómbica para minimizar la permeabilidad; mientras que la representación del colesterol evidencia su estructura más rígida y compacta, con un núcleo esteroideo voluminoso que se inserta entre las cadenas lipídicas, aportando rigidez y modulando el empaquetamiento del sistema. Esta característica estructural es clave en la regulación de la fluidez y estabilidad de la membrana.

En conjunto, las figuras refuerzan la interpretación obtenida a partir de los análisis realizados, mostrando cómo las propiedades estructurales individuales de cada lípido producen un comportamiento del sistema que da lugar a una bicapa ordenada, estable y funcional, característica del estrato córneo.

4. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL ESTUDIO DEL ESTRATO CÓRNEO MEDIANTE DINÁMICA MOLECULAR

El análisis molecular del estrato córneo permite transformar los resultados estructurales y dinámicos obtenidos en criterios útiles para el diseño de estrategias biotecnológicas. En este contexto, parámetros como la difusión, el grado de empaquetamiento, la organización lamelar y la red de puentes de hidrógeno no solo describen el comportamiento de la matriz lipídica, sino que también permiten interpretar qué factores favorecen la impermeabilidad de la barrera o, por el contrario, podrían facilitar la penetración controlada de moléculas externas. Los resultados obtenidos muestran que el sistema lipídico del estrato córneo se autoorganiza en una bicapa estable, con baja difusión normal, alto grado de orden en las cadenas hidrocarbonadas y una red de puentes de hidrógeno que contribuye a la cohesión de la matriz. Estos parámetros permiten relacionar directamente la estructura molecular del sistema con su capacidad para limitar o permitir el paso de moléculas exógenas.

4.1. Diseño racional de sistemas de liberación transdérmica

La administración transdérmica es una alternativa de interés frente a otras vías de administración, ya que evita el metabolismo de primer paso, es poco invasiva y permite una liberación sostenida del principio activo. Sin embargo, su principal limitación es la barrera que presenta del estrato córneo, que actúa como la capa limitante en la absorción cutánea [15]. Debido a esta matriz lipídica altamente empaquetada, el paso transversal de moléculas está fuertemente restringido. No obstante, los ácidos grasos de cadena más corta, como PAL, presentan mayor movilidad lateral y eventos puntuales de cruce del plano central de la bicapa, a diferencia de las ceramidas de cadena larga, que permanecen más estables y actúan como elementos estructurales.

Esta diferencia permite plantear el diseño de sistemas de liberación transdérmica capaces de aprovechar regiones lipídicas más dinámicas o de inducir una disminución controlada y temporal del empaquetamiento. En este contexto, vehículos como niosomas o liposomas deformables podrían favorecer la entrada de principios activos al modificar temporalmente la organización de la matriz lipídica sin comprometer de forma permanente la integridad de la barrera [16].

4.2. Desarrollo de terapias de reparación de la barrera cutánea

El conocimiento molecular del estrato córneo también puede aplicarse al desarrollo de terapias dirigidas a reparar una barrera alterada. En patologías como la dermatitis atópica, la psoriasis, la ictiosis o el envejecimiento cutáneo, se han descrito alteraciones en la composición lipídica, la longitud de las cadenas de las ceramidas y la organización lamelar.

El análisis de puentes de hidrógeno muestra que las interacciones entre ceramidas, especialmente CER3-CER6, y entre ceramidas y colesterol, contribuyen de forma importante a la estabilidad de la bicapa. Por ello, las terapias de reparación no deberían basarse únicamente en aportar lípidos de forma inespecífica, sino en restaurar una organización molecular adecuada. Además, se ha observado que pequeñas diferencias estructurales pueden afectar a la organización de la bicapa. En concreto, la presencia de un doble enlace en CER241 produce una disminución local del parámetro de orden, lo que indica que la insaturación introduce mayor flexibilidad y desorganización conformacional, como sucede en las membranas de pieles envejecidas o patológicas donde el contenido de lípidos insaturados suele incrementar [17]. Los resultados apoyan el interés de formular mezclas que incluyan ceramidas de cadena larga, colesterol y ácidos grasos libres saturados en proporciones adecuadas. La dinámica molecular permitiría comparar distintas formulaciones, realizando un cribado *in silico* de mezclas con isómeros específicos (evitando mezclas racémicas ineficaces) para seleccionar aquellas capaces de reforzar la red de contactos, aumentar el parámetro de orden (S_{CD}) y reducir la difusión anómala observada en pieles que presentan patologías [12].

4.3. Predicción de moléculas capaces de atravesar el estrato córneo

Los resultados de difusión y S_{CD} permiten inferir qué tipo de moléculas tendrían mayor probabilidad de atravesar el estrato córneo. La baja difusión normal y el alto grado de empaquetamiento indican que el paso pasivo estaría limitado, especialmente para compuestos grandes, cargados o muy hidrofílicos.

Por ello, las moléculas con mayor potencial de atravesar la bicapa serían moléculas pequeñas, neutras o poco ionizadas, de bajo peso molecular (generalmente < 500 Da) y con hidrofobicidad moderada ($\log P$ entre 1 y 3). Estas se insertarían con mayor facilidad entre las cadenas hidrocarbonadas y avanzarían a través de regiones más dinámicas de la matriz. En cambio, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos o moléculas muy polares tendrían una permeación pasiva muy limitada y requerirían estrategias adicionales, como nanopartículas, liposomas, microagujas o promotores químicos de penetración [18]. Desde un punto de vista aplicado, este modelo podría utilizarse para estudiar fármacos candidatos a administración transdérmica pasiva, como antiinflamatorios pequeños, anestésicos locales, hormonas esteroideas o compuestos lipofílicos de liberación sostenida. También permitiría evaluar potenciadores de penetración química capaces de disminuir el S_{CD} , aumentar la difusión lateral o generar defectos transitorios en la bicapa [12].

4.4. Innovación en formulaciones dermocosméticas y biomateriales

El estudio del estrato córneo mediante dinámica molecular también puede aplicarse al desarrollo de formulaciones dermocosméticas avanzadas y biomateriales inspirados en la piel. Este conocimiento puede emplearse para diseñar cremas lamelares, emulsiones biomiméticas, parches cutáneos o sistemas de liberación que reproduzcan parcialmente la organización natural del estrato córneo. En productos destinados a piel sensible, atópica o envejecida, el objetivo no debe ser únicamente aumentar la penetración de activos, sino preservar o restaurar la integridad de la barrera [15].

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha analizado, mediante simulación de dinámica molecular, el comportamiento estructural y dinámico de un sistema lipídico representativo del estrato córneo, compuesto por ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres. Los resultados obtenidos muestran que el sistema es capaz de autoorganizarse de manera espontánea en una bicapa estable, con unas propiedades compatibles con una matriz lipídica altamente organizada. Esta organización refleja la capacidad de los lípidos del estrato córneo para establecer una arquitectura cohesiva, en la que la correcta disposición de las regiones polares e hidrofóbicas resulta esencial para mantener la función barrera.

El análisis de los centros de masas y de los perfiles de densidad respaldó una organización transversal coherente de los distintos componentes, observándose una clara separación entre las interfases polares y el núcleo hidrofóbico de la bicapa. Además, los coeficientes de difusión evidenciaron una movilidad lateral limitada y una difusión normal reducida, características asociadas a sistemas compactos y de baja permeabilidad. No obstante, se observaron diferencias entre los distintos tipos de lípidos, ya que los ácidos grasos de cadena más corta presentaron una mayor movilidad relativa, observable en el análisis de centros de masas, mientras que las ceramidas mostraron un comportamiento más inalterado en el tiempo, reforzando su papel como componentes estructurales de la matriz lipídica.

Del mismo modo, el parámetro de orden reveló un alto grado de empaquetamiento en la mayoría de las cadenas hidrofóbicas, especialmente en las ceramidas, lo que apoya su contribución a la rigidez y estabilidad del sistema. La presencia de ceramidas de cadena larga favorece una organización de baja porosidad, mientras que pequeñas modificaciones estructurales, como la presencia de insaturaciones, pueden introducir desorden local y alterar el empaquetamiento. Por otra parte, el estudio de los puentes de hidrógeno puso de manifiesto la existencia de una red de interacciones polares entre ceramidas y entre ceramidas-colesterol, que contribuye a la cohesión de la bicapa y a la organización de la interfaz lipídica.

La conformación final del sistema mostró, además, que la bicapa no presenta un grosor completamente homogéneo, sino una distribución lateral heterogénea. El mapa de grosor permitió identificar regiones de menor espesor, asociadas probablemente a zonas más flexibles o menos compactas, y regiones de mayor grosor, compatibles con dominios enriquecidos en lípidos de cadena larga. Esta heterogeneidad sugiere la formación de dominios laterales con distinta organización estructural, lo que indica que la capacidad protectora no depende únicamente de la composición global del sistema, sino también de la distribución espacial de los lípidos y del grosor local de la matriz.

En conjunto, estos resultados apoyan la idea de que la composición lipídica y la naturaleza molecular de cada componente determinan de forma directa el grado de orden, la movilidad, el grosor y la estabilidad de la barrera cutánea. Aunque el sistema estudiado es una simplificación del estrato córneo, ya que no incluye toda la diversidad lipídica presente *in vivo*, el modelo reproduce tendencias biofísicas relevantes y permite comprender los mecanismos moleculares que subyacen a su función barrera.

Desde un punto de vista biotecnológico, los resultados obtenidos permiten inferir qué propiedades moleculares favorecerían o dificultarían el paso de sustancias a través del estrato córneo. La baja difusión normal y el elevado empaquetamiento observados sugieren que las moléculas grandes, cargadas o muy hidrofílicas tendrían una permeación pasiva limitada. En cambio, moléculas pequeñas, neutras o poco ionizadas y con hidrofobicidad moderada podrían insertarse con mayor facilidad en la matriz lipídica y atravesar regiones más dinámicas. Esta información resulta relevante para el diseño racional de sistemas de liberación transdérmica, promotores químicos de penetración y formulaciones capaces de modular temporalmente la regulación del paso de sustancias sin comprometer permanentemente la barrera.

Asimismo, el papel estabilizador de las ceramidas, la contribución de los ácidos grasos libres al empaquetamiento lateral y la participación del colesterol en la organización de la interfaz lipídica respaldan el interés de desarrollar formulaciones reparadoras basadas en mezclas lipídicas fisiológicas. Estas formulaciones podrían orientarse al tratamiento de alteraciones de la barrera cutánea, como la dermatitis atópica, la psoriasis, la ictiosis o el envejecimiento cutáneo, donde la composición y organización de la matriz lipídica se encuentran comprometidas.

Por tanto, este estudio pone de manifiesto el valor de la dinámica molecular como herramienta para caracterizar sistemas lipídicos complejos y para explorar, a escala atómica, relaciones estructura-función difíciles de abordar experimentalmente. Esta aproximación permite no solo describir la organización molecular del estrato córneo, sino también orientar el diseño de nuevas estrategias terapéuticas, formulaciones dermocosméticas, sistemas de liberación transdérmica y modelos de reparación dirigidos a restaurar o modular la integridad de la barrera cutánea.

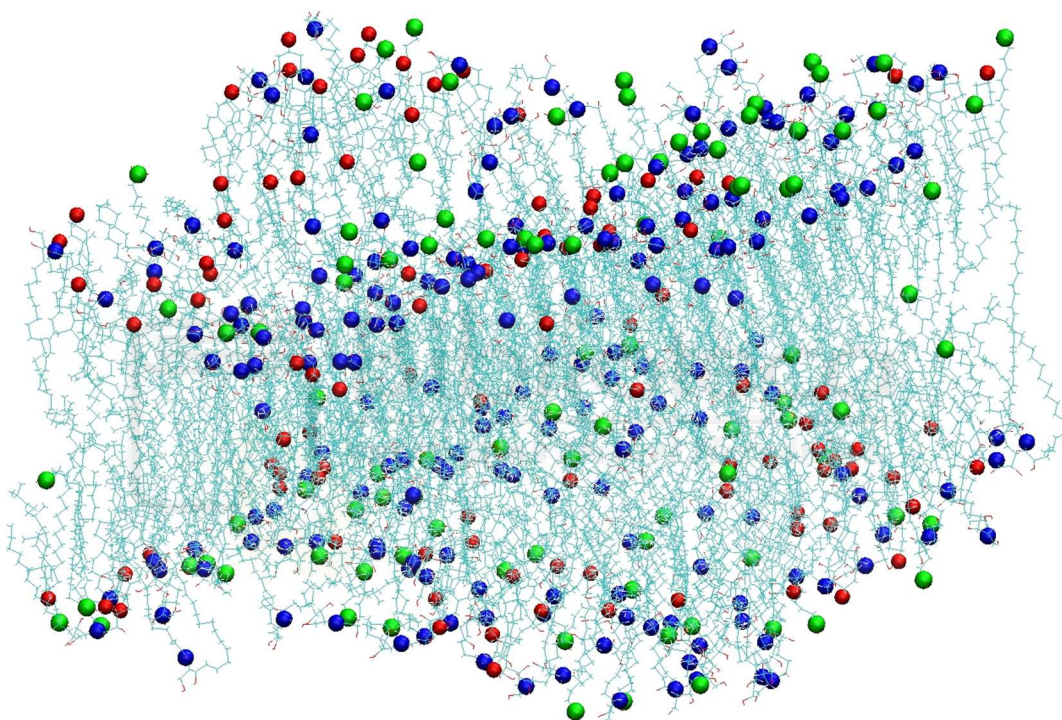


Figura 16. Visión lateral de la conformación final de los lípidos de la bicapa tras 800 ns de simulación.

6. REFERENCIAS

1. Nicolaou, A., & Kendall, A. C. (2024). Bioactive lipids in the skin barrier mediate its functionality in health and disease. *Pharmacology & Therapeutics* Volume 260, 2024, 108681, ISSN 0163-7258.
2. Siqueira, R. A. G. B., Hradkova, I., Leite-Silva, V. R., Andréo-Filho, N., & Lopes, P. S. (2025). Skin lipids and their influence on skin microbiome and skin care. *ACS Omega*, 10(27), 28534–28546.
3. J. van Smeden, M. Janssens, G.S. Gooris, J.A. Bouwstra, The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, Volume 1841, Issue 3, 2014, Pages 295-313, ISSN 13818-1981.
4. J.A. Bouwstra, A. Nădăban, W. Bras, C. McCabe, A. Bunge, G.S. Gooris. The skin barrier: An extraordinary interface with an exceptional lipid organization. *Progress in Lipid Research*, Volume 92, 2023, 101252, ISSN 0163-7827.
5. M. Janssens, J. van Smeden, G. S. Gooris, W. Bras, G. Portale, P.J. Caspers, R. J. Vreeken, T. Hankemeier, S. Kezic, R. Wolterbeek, A. P. Lavrijsen, J. A. Bouwstra, Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients, *J. Lipid Res.* 53 (2012) 2755–2766.
6. Berdyshev E. Skin Lipid Barrier: Structure, Function and Metabolism. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2024 Sep;16(5):445-461.
7. Lieckfeldt, R., Villalaín, J., Gómez-Fernández, J. C., & Lee, G. (1993). Diffusivity and structural polymorphism in some model stratum corneum lipid systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1150(2), 182–188.
8. Shamaprasad, P., Frame, C. O., Moore, T. C., Yang, A., Iacovella, C. R., Bouwstra, J. A., Bunge, A. L., & McCabe, C. (2022). Using molecular simulation to understand the skin barrier. *Progress in Lipid Research*, 88, 101184.
9. Lieckfeldt, R., Villalaín, J., Gómez-Fernández, J. C., & Lee, G. (1995). Apparent pKa of the fatty acids within ordered mixtures of model human stratum corneum lipids. *Pharmaceutical Research*, 12(11), 1614–1617.
10. Denda, M., Koyama, J., Hori, J., Horii, I., Takahashi, M., Hara, M., et al. (1993). Age and sex-dependent change in stratum corneum sphingolipids. *Archives dermatological Res.* 285, 415–417. doi:10.1007/BF00372135

11. Woo YR and Kim HS (2024) Interaction between the microbiota and the skin barrier in aging skin: a comprehensive review. *Front. Physiol.* 15:1322205.
12. Yu, F., Leng, L., Wang, H., Du, M., Wang, L., & Xu, W. (2025). The Skin Barrier: A System Driven by Phase Separation. *Cells*, 14(18), 1438.
13. Villalaín, J. (2023). Labyrinthopeptin A2 disrupts raft domains. *Chemistry and Physics of Lipids*, 253, 105303.
14. Villalaín, J. (2023). Phospholipid binding of the dengue virus envelope E protein segment containing the conserved His residue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1865(7), 184198.
15. Schild J, Kalvodová A, Zbytovská J, Farwick M, Pyko C. The role of ceramides in skin barrier function and the importance of their correct formulation for skincare applications. *Int J Cosmet Sci.* 2024;46:526–543.
16. Alkilani, A. Z., McCrudden, M. T. C., & Donnelly, R. F. (2015). Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the Stratum Corneum. *Pharmaceutics*, 7(4), 438-470.
17. Sakai T, Hatano Y. Stratum corneum pH and ceramides: Key regulators and biomarkers of skin barrier function in atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Science*, 2025; 118, 51-57. UNIVERSITAS Miguel Hernández
18. Gupta, R., Dwadasi, B., Rai, B. et al. Effect of Chemical Permeation Enhancers on Skin Permeability: *In silico* screening using Molecular Dynamics simulations. *Sci Rep* 9, 1456 (2019).